

RECHERCHES
SUR LES
ALCALOÏDES VOLATILS
DES FEUILLES DE BELLADONE

LEUR IMPORTANCE DANS L'APPRÉCIATION DE LA VALEUR PHARMACO-DYNAMIQUE
DE CETTE DROGUE

THÈSE
POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS (PHARMACIE)

Présentée et soutenue le *Avril 1922*

PAR

André LARSONNEAU

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE
INTERNE EN PHARMACIE DES HÔPITAUX DE PARIS

JURY { MM. PERROT, président.
DELÉPINE, professeur.
GORIS, agrégé.

IMPRIMERIE J. LEGCHEVREL, MAYENNE

1922

RECHERCHES
SUR LES
ALCALOÏDES VOLATILS
DES FEUILLES DE BELLADONE

LEUR IMPORTANCE DANS L'APPRÉCIATION DE LA VALEUR PHARMACO-DYNAMIQUE
DE CETTE DROGUE

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS (PHARMACIE)

Présentée et soutenue le *Avril 1922*

PAR

André LARSONNEAU

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE
INTERNE EN PHARMACIE DES HÔPITAUX DE PARIS

JURY

MM. PERROT, président.
DELEPINE, professeur.
GORIS, agrégé.

IMPRIMERIE J. LECHEVREL, MAYENNE

1922



Personnel de la Faculté de Pharmacie

ADMINISTRATION

MM. H. GAUTIER, *Doyen*, O. ,  I.
 RADAIS, *Assesseur*, ,  I.
 G. DURSENT, *Secrétaire*, ,  I.

PROFESSEURS

MM. GUIGNARD, Membre de l'Institut, C.  ,  I.	Botanique Générale.
VILLIERS,  ,  I.	Chimie analytique.
H. GAUTIER, O.  ,  I.	Chimie minérale.
RADAIS,  ,  I.	Cryptogamie.
BEHAL, Membre de l'Institut, C.  ,  I.	Chimie organique.
PERROT, O.  ,  I.	Histoire Naturelle des Médicaments.
COUTIERE,  ,  I.	Zoologie.
BERTHELOT, Membre de l'Institut,  ,  I.	Physique.
GRIMBERT,  ,  I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O.  ,  I.	Pharmacie chimique.
GUERBET,  ,  I.	Toxicologie.
DELEPINE,  ,  I.	Hydrologie et Hygiène.
BOUGAULT,  ,  I.	Pharmacie galénique.

Doyen honoraire : M. GUIGNARD, C. ,  I.
Professeur honoraire : M. MOUREU, O. ,  I.

CHARGÉS DE COURS

MM. TASSILLY,  ,  I.	Minéralogie.
MARC HONNORAT,  ,  I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
GUERIN,  ,  I.	Cryptogamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET,  ,  I.	MM. GUÉRIN,  ,  I.	MM. LAUNOY,  ,  A.
DAMIENS,  ,  A.	LUTZ,  ,  I.	HERISSEY,  ,  I.
TASSILLY,  ,  I.	GORIS,  ,  I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ,  ,  I.	Chimie générale.
COUSIN,  ,  I.	Chimie analytique.
SOUÈGES,  ,  I.	Micrographie.
LEROUX,  ,  I.	Physique.
DEVAL,  ,  I.	Microbiologie.
JAVILLIER,  ,  I.	Travaux généraux de 4 ^e année.

Chef du Laboratoire des Examens pratiques : M. JAVILLIER, ,  I.
Bibliothécaire en Chef : M. DORVEAUX, ,  I.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR E. PERROT

Officier de la Légion d'honneur

Hommage très respectueux

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ A. GORIS

Pharmacien des Hôpitaux de Paris
Chevalier de la Légion d'honneur

Témoignage de profonde reconnaissance

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MES PARENTS

A MES AMIS

INTRODUCTION

Sur l'origine et le rôle des alcaloïdes dans les plantes

Découverts il y a cent ans, les alcaloïdes n'ont pas cessé d'être l'objet de nombreuses recherches poursuivies dans des directions différentes suivant le but à atteindre.

Tout d'abord à la suite des travaux de DEROSNE, SEGUIN, SERTUERNER, ROBIQUET, un grand nombre de chercheurs, dont l'attention se trouvait attirée par cette catégorie de corps aux propriétés si curieuses, se proposèrent de traiter les végétaux les plus en usage dans la thérapeutique pour en extraire les alcaloïdes. Jusqu'en 1870, les chimistes, et plus particulièrement les pharmaciens, que cette étude intéressait au point de vue pratique autant que théorique, se sont surtout préoccupés d'isoler ces corps dans le plus grand état de pureté.

Durant toute cette période, *le point de vue analytique domina les recherches.*

Puis les méthodes employées en chimie organique, la notion de « fonction », la représentation géométrique des formules, ont entraîné les chercheurs vers une voie nouvelle. On a cherché peu à peu à disséquer la molécule des alcaloïdes connus, en les dissociant, pour en connaître la constitution intime, et l'on a essayé de les reproduire par synthèse, soit dans un but théorique, pour confirmer les déductions analytiques, soit dans un but pratique, pour les préparer à meilleur compte que par les procédés extractifs.

En un mot l'analyse immédiate des végétaux cessa d'être la

seule préoccupation des chercheurs ; *l'étude de la constitution chimique des principes isolés devint le principal objet de leurs travaux.*

De nos jours les recherches concernant l'extraction et la constitution chimique des alcaloïdes ne sont pas abandonnées. Dans ce domaine bien des questions restent à résoudre, mais désormais les connaissances scientifiques sont suffisamment solides pour permettre d'envisager une nouvelle face du problème : *le point de vue biologique.*

Connaître l'origine et la destination des alcaloïdes, savoir comment ils se sont formés à partir des éléments constitutifs, ou de quels composés ils ont pris naissance, quelle peut être leur utilité pour la plante, doivent-ils être considérés comme des réserves de substances azotées, ou bien sont-ils des déchets de l'organisme végétal ? Tels sont les problèmes nouveaux qui se posent à notre esprit et dont la solution est encore à peine ébauchée.

L'étude des variations journalières et saisonnières des alcaloïdes chez les végétaux, dans des conditions de vie normale ou de vie expérimentale, peut fournir d'utiles indications sur la meilleure voie à suivre pour aborder ce travail. Mais cette étude suppose que le chercheur dispose de moyens d'investigations qualitative et quantitative permettant de déceler la présence des alcaloïdes et de les doser, et, en fait, on possède des réactions spécifiques pour un certain nombre d'entre eux et on connaît des méthodes de dosage suffisamment précises.

La comparaison d'un grand nombre de résultats, jointe à une observation rigoureuse, est souvent propre à mettre en lumière les facteurs extérieurs qui interviennent au cours de la vie du végétal pour amener l'augmentation ou la diminution du taux des alcaloïdes. Ces premiers essais conduisent, le plus souvent, à de nouvelles expériences qui viennent confirmer les idées antérieures, ou bien font apparaître des faits contradictoires. Ces derniers exigent à leur tour d'autres éclaircissements qui nous amènent progressivement à une meilleure

compréhension de tous les phénomènes qui concourent à la formation des alcaloïdes végétaux.

La poursuite de ces recherches implique d'autre part une connaissance approfondie de la composition chimique de la plante, qui ne peut être le résultat que d'une analyse minutieuse.

Lorsqu'ils étudiaient une plante, les premiers savants avaient surtout en vue l'isolement du principe actif le plus important en quantité.

Or il est rare qu'une plante renferme un seul alcaloïde ; le fait n'existe pour ainsi dire pas. A côté du produit principal figure ordinairement toute une série de corps moins faciles à isoler, parce que leur quantité est trop faible ou qu'ils sont difficilement cristallisables.

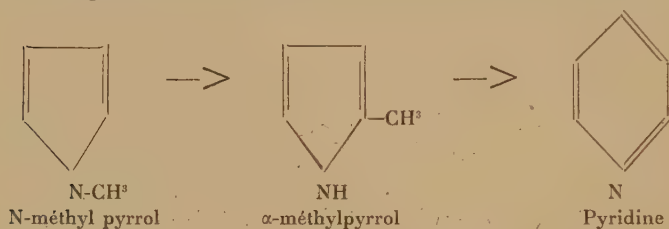
Le biologiste a intérêt à connaître tous ces composés, même ceux qui n'existent qu'à l'état de traces, et l'on pourrait presque ajouter, surtout ceux-ci. Ces corps sont peut-être les pivots d'une série de transformations chimiques, les termes de passage d'un composé à un autre : dans cette hypothèse, leur apparition suivie de leur destruction, serait la conséquence de leur état pour ainsi dire instable dans le milieu où ils prennent naissance, et ce fait permettrait d'expliquer leur existence en faible quantité. La connaissance de ces corps serait alors un élément essentiel pour bien comprendre le mécanisme de la formation des alcaloïdes.

Nous devons d'abord constater que les faits rassemblés jusqu'à ce jour n'ont pas apporté de réponse à cette question de l'origine des alcaloïdes. Comme il arrive toujours en pareil cas, les hypothèses se sont succédées (d'autant plus nombreuses que l'on était plus éloigné de la solution du problème) pour fournir les explications que la méthode expérimentale se montrait momentanément impuissante à faire découvrir.

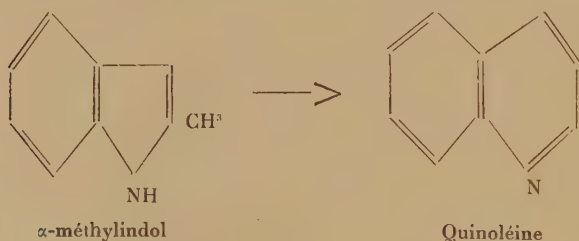
PICTET (1) voit l'origine des alcaloïdes du groupe pyrrolique

1. A. PICTET : Quelques considérations sur la genèse des alcaloïdes dans la plante, *Arch. Sc. phys. et nat.* Genève (4^e S), **19**, 329-352, 1905.

dans la décomposition des matières azotées complexes et plus particulièrement des albumines et des nucléalbumines, décomposition qui donnerait lieu à la formation de bases pyrroliques de constitution relativement simple. La complication de leur molécule serait le fait de combinaisons ou de condensations avec d'autres substances, ou de transformations moléculaires. Ainsi on passerait du noyau pyrrolique au noyau pyridique par une méthylation du premier noyau à l'azote, suivie d'une migration moléculaire faisant passer le carbone de la chaîne latérale dans le noyau. D'après ce mécanisme le N-méthylpyrrol (ou mieux l' α -méthylpyrrol, car le N-méthylpyrrol se transforme rapidement en α -méthylpyrrol) donnerait la pyridine



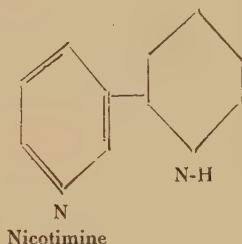
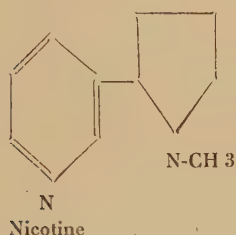
De même le méthylindol donnerait la quinoléine.



Ces vues théoriques sont évidemment très séduisantes. Elles sont de plus utiles par les expériences nouvelles qu'elles ont fait naître en vue de leur vérification.

PICTET comprenant tout l'intérêt qui s'attachait à la vérification de son hypothèse a étudié à ce point de vue les alca-

loïdes des feuilles de Tabac. Avec ROTSCHY (1) il a pu isoler en outre de la nicotine trois bases différentes, dont l'une, la nicotimine, est un isomère de la nicotine. Mais tandis que la nicotine est une base tertiaire renfermant un noyau pyrrolidique méthylé à l'azote, la nicotimine est une base secondaire qui paraît être une pyridyl-pipéridine.



Il y aurait entre ces deux corps la même relation qu'entre le méthyl-pyrrol et la pyridine.

Plus tard reprenant avec COURT cette question, PICTET (2) isola de nouveaux alcaloïdes du Tabac, la pyrrolidine et la N-méthylpyrroline.

La connaissance de ces alcaloïdes volatils du groupe pyrrolique est venue étayer un peu plus son hypothèse.

Des alcaloïdes semblables ou du même groupe ont été retirés d'autres végétaux (Persil, Coca, Carotte, Poivre).

Certes il serait prématuré de conclure de ces quelques faits à la vérification de l'hypothèse de PICTET dans le cas général, d'autant plus que d'autres théories tout aussi vraisemblables ont été proposées.

On peut concevoir la formation des alcaloïdes à partir des diamines ou des amino-acides des matières protéiques (3).

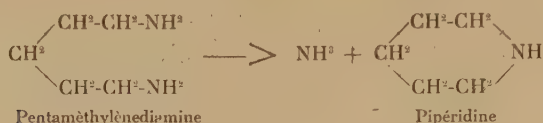
La tétraméthylènediamine par perte d'ammoniaque donne-

1. Pictet et Rotschy : *Arch. Sc. phys. et nat.*, Genève (4^e S.), **12**, 209, 1901.

2. Pictet et G. Court : Sur quelques nouveaux alcaloïdes végétaux. *Bull. Soc. chim. de Fr.* (4^e S.), **I**, 1001, 1907.

3. Winterstein et Trier : *Die Alkaloïde*, Berlin, 1910.

rait la pyrrolidine ; la pentaméthylènediamine donnerait la pipéridine.



Les amino-acides conduiraient par un mécanisme analogue aux pyrrolidones.

De même on pourrait entrevoir la formation des alcaloïdes à partir des acides organiques ou mieux de leurs sels ammoniacaux (1).

On conçoit alors comment la connaissance de tous les corps intermédiaires, de tous les termes de passage d'un composé à un autre, dont certains peuvent n'exister qu'en très faibles quantités dans la plante, peut nous fournir les données qui dicteront notre choix entre toutes ces hypothèses.

De nombreux travaux sont nécessaires pour atteindre ce but. La lumière sur tous ces phénomènes de transformations chimiques qui s'opèrent au sein de la cellule végétale, ne pourra être le résultat que de l'accumulation et de la comparaison d'un grand nombre de faits.

Ce sont ces considérations qui nous ont engagés à entreprendre ce travail sur la composition chimique des feuilles de Belladone.

D'autre part une remarque faite par M. BEAUSITE (2) au cours de ses recherches sur les méthodes employées pour le dosage des alcaloïdes de la Belladone, l'avait conduit à penser que certaines anomalies ne pouvaient s'interpréter qu'en admettant l'existence d'alcaloïdes volatils dans la plante.

Nous nous sommes proposés à la fois de vérifier les idées

1. DUNSTAN : *Pharm. Journal and Trans.* **18**, 716, 1887.

2. MM. GORIS et BEAUSITE : A propos du dosage de l'extrait de Belladone et de l'unification des méthodes d'analyse. *Bull. Sc. Pharm.* **26**, 53-59, 1919.

émises par M. BEAUSITE et d'apporter notre part d'arguments aux théories actuellement en cours sur la genèse des alcaloïdes.

La poursuite de ces recherches a été possible grâce à l'obligeance de la maison ROQUES qui a bien voulu se mettre à notre disposition pour traiter une quantité importante de feuilles de Belladone.

Nous sommes heureux d'exprimer toute notre reconnaissance à M. TIRARD, chef de laboratoire de cet établissement.

Nous adressons nos sincères remerciements à M. VISCHNIAC pour les précieux conseils qu'il nous a apportés au cours de ces recherches.

M. le Professeur agrégé GORIS nous a inspiré l'idée de ce travail. Au cours de nos essais il n'a cessé de nous guider de ses conseils éclairés.

A ce maître bienveillant nous sommes heureux d'adresser l'expression de notre profonde sympathie et de notre sincère attachement.

Nous prions M. le Professeur PERROT qui nous a toujours témoigné la marque de la plus grande bienveillance d'agréer l'expression de notre profonde et respectueuse gratitude.

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE I

Sur l'existence d'alcaloïdes volatils dans les feuilles de Belladone

Dans un travail intitulé *Etude sur la teneur alcaloïdique de la Belladone cultivée*, M. BEAUSITE (1) a fait une étude comparative des divers procédés utilisés pour doser les alcaloïdes dans les extraits de Belladone.

Il a constaté en premier lieu que les résultats obtenus présentaient des différences parfois considérables suivant le procédé utilisé.

Sans entrer dans les plus petits détails de technique opératoire, rappelons que, suivant les procédés, l'alcali employé pour la mise en liberté des alcaloïdes est le carbonate de soude ou l'ammoniaque. Les alcaloïdes une fois séparés sous forme de solution éthero-chloroformique sont, suivant les cas, repris directement par un acide, ou bien ils subissent après évaporation de l'éther et du chloroforme, une dessiccation préalable à l'étuve à $+ 100^{\circ}$.

L'application des différentes méthodes au titrage de deux extraits de Belladone types a conduit M. BEAUSITE aux conclusions suivantes :

1° *Le choix de l'alcali employé n'influence que dans une faible mesure les résultats des dosages.*

1. BEAUSITE. *Etude sur la teneur alcaloïdique de la Belladone cultivée*. Th. Doct. Univ. (Pharmacie) Paris, 1919.

2° Le chauffage à l'étuve, au contraire, provoque une perte d'alcaloïdes et conduit par suite à des résultats plus faibles.

Pour bien mettre en évidence cette influence de la dessiccation à l'étuve, M. BEAUSITE a entrepris 4 séries de dosages. Deux extraits de Belladone ont été titrés :

1° Suivant la méthode du Codex français ;

2° Suivant la méthode du Codex, mais en substituant l'ammoniaque au carbonate de soude.

Les 3^e et 4^e dosages correspondaient aux 1^{er} et 2^e, mais les solutions éthéro-chloroformiques étaient évaporées à sec, puis maintenues à l'étuve à + 100° pendant trois quarts d'heure.

Les résultats de ces expériences sont consignés dans le tableau ci-après :

	DÉPLACEMENT PAR CO ³ Na ³		DÉPLACEMENT PAR NH ³	
	Sans évaporation	Avec évaporation	Sans évaporation	Avec évaporation
	Alcaloïdes 0/0	Alcaloïdes 0/0	Alcaloïdes 0/0	Alcaloïdes 0/0
Ext. n° 1 ⁽¹⁾	a) 2,73	2,39	2,58	2,27
	b) 2,63	2,37	2,40	2,28
	c) 2,64	2,38	2,55	2,24
Ext. n° 2....	3,23	2,95	3,06	2,29

(¹) L'analyse du premier extrait a été faite par trois opérateurs différents.

Ces essais ne laissent plus place à aucun doute ; c'est bien le chauffage à l'étuve qui produit la diminution du taux des alcaloïdes.

Si l'on remarque que parmi les différentes Pharmacopées, les unes recommandent la dessiccation préalable à l'étuve de

la solution éthéro-chloroformique d'alcaloïdes, tandis que d'autres font reprendre directement cette solution alcaloïdique par l'acide sulfurique centinormal, on conçoit l'intérêt à la fois thérapeutique et commercial que présenterait l'emploi d'une méthode uniforme, conduisant à des résultats comparables.

Le tableau ci-après emprunté également à l'ouvrage de M. BEAUSITE fait bien ressortir la nécessité qu'il y aurait d'unifier les méthodes de dosage dans les différentes Pharmacopées.

	FRANÇAISE	BELGE	ALLEMANDE	HELVÉTIQUE	ANGLAISE
	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0	Alcaloïde 0/0
Ext. n° 1	2,65	2,68	2,48	2,13	2,07
Ext. n° 2	3,29	3,27	2,92	2,80	2,70

Cette perte d'alcaloïdes peut s'expliquer soit par une altération à l'étuve des alcaloïdes fixes existant dans la Belladone, soit par l'existence d'alcaloïdes volatils.

Si le chauffage à l'étuve amenait une altération de l'atropine, les résultats du dosage devraient varier avec la durée du séjour à l'étuve, ce qui n'a pas lieu, comme a pu s'en rendre compte M. BEAUSITE.

C'est donc à l'hypothèse de l'existence d'alcaloïdes volatils dans la Belladone qu'il y a lieu de se rallier.

Dans les procédés qui utilisent l'ammoniaque, il est recommandé d'effectuer la dessiccation à l'étuve des alcaloïdes, cette opération ayant pour but de chasser toute trace d'ammoniaque.

Dans ces dernières méthodes et plus généralement dans tous les procédés où l'on effectue la dessiccation des alcaloïdes à l'étuve à + 100° (Pharmacopée allemande), les alcaloïdes dosés correspondraient aux alcaloïdes fixes.

Tandis que dans les autres méthodes (Codex français), les alcaloïdes dosés correspondraient aux alcaloïdes totaux, fixes et volatils.

Le travail que nous avons entrepris a eu pour but de justifier cette opinion, en fournissant la preuve de l'existence d'alcaloïdes volatils dans la Belladone, et en montrant dans quelle mesure leur présence peut influencer les résultats des dosages.

Poussant alors plus loin nos recherches nous nous sommes efforcés d'identifier ces bases en opérant sur une quantité assez considérable de matière première.

CHAPITRE II

Traitement des feuilles de Belladone pour extraire et séparer les alcaloïdes fixes et volatils

500 kilogs de feuilles de Belladone sont traités par une solution aqueuse de carbonate de soude et épuisés par un dissolvant approprié, non miscible à l'eau, pour entraîner sous forme de solution les bases organiques devenues libres. La liqueur alcaloïdique obtenue, épuisée elle-même par l'acide sulfurique, donne une solution aqueuse renfermant, à l'état de sulfates, toutes les bases extraites de feuilles de Belladone. C'est cette solution que nous avons traitée au laboratoire. Pour la facilité de l'exposé nous l'appellerons *Solution Primitive*.

Après neutralisation et alcalinisation de cette solution au moyen du carbonate de soude, on effectue une série d'épuisements successifs au moyen de l'éther. Ces traitements à l'éther sont poursuivis jusqu'à ce que le solvant n'enlève plus rien à la solution alcaline, ce que l'on constate par évaporation d'une assez forte quantité de liqueur étherée. (Dans l'éther et souvent même dans la solution alcaline l'hyoscyamine cristallise en très belles houppes blanches.)

Ce premier traitement sépare déjà les bases en deux groupes :

1° *Bases insolubles ou peu solubles dans l'eau* et que l'on retrouve dans l'éther. C'est en particulier le cas de l'atropine, de l'hyoscyamine et plus généralement des bases pyrroliques et pyrrolidiques que nous supposons pouvoir exister dans la Belladone ;

2^o *Bases solubles dans l'eau et dans l'éther*, mais peu entraînables par ce dernier solvant, lorsqu'elles sont en solution aqueuse. C'est le cas de nombreuses amines de la série grasse. Ces bases restent en grande partie dans la *solution primitive*.

I. Traitement des liqueurs éthérées

Les solutions éthérées sont alors réunies et lavées avec un peu d'eau pour les débarrasser aussi complètement que possible des bases du second groupe, dont nous venons de parler (il y a évidemment entraînement simultané de bases alcaloïdiques, mais toutefois dans de faibles proportions, étant donnée la petite quantité d'eau utilisée pour les lavages, comparativement au volume de l'éther.)

L'éther ainsi lavé est épuisé à plusieurs reprises par l'acide sulfurique étendu.

La solution sulfurique d'alcaloïdes obtenue est soumise à son tour à un nouveau traitement par le carbonate de soude et l'éther.

Les solutions éthérées provenant de cette dernière opération sont concentrées et abandonnées au repos pendant douze heures.

En opérant dans ces conditions nous avons obtenu un dépôt cristallin, constitué par de l'*hyoscyamine*. Après une nouvelle concentration des liqueurs il y a eu précipitation d'une nouvelle quantité d'*hyoscyamine*. Finalement il nous est resté une liqueur éthérée jaune ne laissant plus déposer d'*hyoscyamine*. En attendant quelques jours nous avons alors obtenu de nouveaux cristaux bien différents, constitués par un *mélange d'atropine et d'hyoscyamine*, comme l'a montré la détermination du pouvoir rotatoire ; le poids du *mélange atropine et hyoscyamine* ainsi recueilli a été faible comparativement à la totalité de l'*hyoscyamine* isolée.

Les solutions éthérées ainsi privées de la plus grande partie de l'*hyoscyamine* et de l'*atropine* qu'elles contenaient, sont utilisées pour l'extraction des alcaloïdes volatils.

Mais avant d'aborder cette dernière question il est intéressant de noter au passage le fait d'ailleurs signalé que la Belladone *renferme surtout de l'hyoscyamine et très peu d'atropine*, et en outre que l'hyoscyamine s'obtient avec la plus grande facilité, puisque après deux cristallisations successives, nous avons obtenu un produit fondant à $+ 106^{\circ}$ - 107° , pour lequel $\alpha_D = - 20^{\circ}$ en solution dans l'alcool absolu, les constantes données pour l'hyoscyamine étant : $PF = 108^{\circ}5$, $\alpha_D = - 21^{\circ} 10'$.

Extraction des alcaloïdes volatils

La solution éthérée jaune débarrassée, comme nous venons de le voir, de la majeure partie de l'hyoscyamine et de l'atropine qu'elle contenait, renferme encore une certaine quantité d'alcaloïdes fixes restés en solution et des produits non cristallisables. Elle contient en outre des bases volatiles et c'est elle qui nous a servi pour l'extraction et la caractérisation de ces bases.

Dans ce but la solution éthérée est distillée au bain-marie, à basse température, pour chasser tout l'éther.

Le résidu est distillé *dans le vide*. On recueille les vapeurs dans un récipient refroidi par un mélange de glace et de sel. Les traces de vapeurs qui échappent à la condensation sont retenues dans un flacon laveur contenant de l'acide chlorhydrique étendu.

Au cours de cette distillation on recueille les vapeurs qui passent de $+ 30^{\circ}$ à $+ 50^{\circ}$. D'ailleurs les parties qui distillent au-dessus de cette température sont excessivement faibles ; le thermomètre monte rapidement et il faut chauffer vers $+ 100^{\circ}$ à $+ 120^{\circ}$ pour obtenir une nouvelle distillation.

Le distillat obtenu est un liquide limpide, incolore, possédant une *odeur très nette et très forte de pyridine, rougissant la phénolphthaleïne*.

Ces premiers caractères permettent déjà de conclure à la présence de bases volatiles dans la Belladone.

Pour compléter cette étude il nous a paru intéressant de chercher à les identifier.

Identification des alcaloïdes volatils retirés de la Belladone

L'odeur du distillat nous avait tout d'abord conduits à penser que les alcaloïdes volatils de la Belladone appartenaient au groupe de la pyridine.

En procédant à une nouvelle distillation, à la *pression ordinaire*, on constate que le produit passe presque entièrement vers $+ 95^{\circ}$ et certainement au-dessous de $+ 100^{\circ}$. Or comme l'hydrate de pyridine distille à $+ 94^{\circ}$, ce fait apportait une confirmation à notre première idée.

Nous avons alors tenté d'obtenir des composés cristallisés, tels que l'*iodure double de cadmium et de pyridine*, le *chlorure double de mercure et de pyridine*, le *picrate de pyridine*. Mais en présence des difficultés rencontrées pour obtenir ces composés, on devait penser que si la pyridine existait dans notre produit, elle ne s'y trouvait qu'en faible quantité et certainement accompagnée d'autres bases.

En fait *le distillat rougit la phénolphthaléine*, ce que ne fait pas la pyridine.

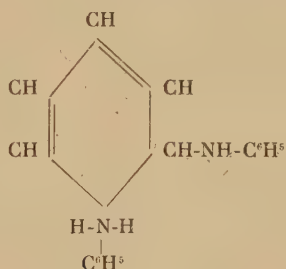
Une goutte du distillat chauffée dans un tube à essai *colore en rouge un copeau de sapin imprégné d'acide chlorhydrique*.

Ce dernier caractère nous conduisait naturellement à admettre la présence des *bases pyrroliques*.

Mais avant d'orienter les recherches dans cette nouvelle direction, nous nous sommes efforcés d'éclaircir ce premier point: *la pyridine existe-t-elle parmi les alcaloïdes volatils de la Belladone*? L'odeur que nous avions constatée et que nous rapportions à la pyridine, pouvait fort bien en effet provenir de bases pyrroliques, telles que la 2-méthylpyrroline, qui sont décrites comme des bases à odeur de pyridine.

Caractérisation de la Pyridine

Pour la caractérisation de petites quantités de pyridine, nous avons mis à profit la propriété qu'elle possède de se combiner à l'aniline en présence de bromure de cyanogène, en donnant naissance à une matière colorante rouge cristallisée, fusible à + 162°, le bromure d' α -anilido-phényldihydropyridinium.



Pour faire cette réaction on mélange 1 goutte de pyridine, 1 goutte d'aniline, 1 à 2 cm³ d'eau et 5 à 10 centigrammes de bromure de cyanogène récemment préparé. Il se forme instantanément une coloration rouge intense et un précipité formé de cristaux aiguillés.

Nous avons constaté que cette réaction est d'une très grande sensibilité. Elle se produit avec intensité dans le cas d'une solution contenant 1 goutte de pyridine pour 250 cm³ et elle est encore très nette pour une solution contenant 1 goutte de pyridine dans 5 litres d'eau. La limite de sensibilité correspond à 1 goutte de pyridine dans 10 litres d'eau. Dans ces conditions on obtient d'abord une coloration jaune, qui devient orange après 30' à 40' ; au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures il se dépose des gouttelettes huileuses rouges.

Si l'on remarque que XL gouttes de pyridine mesurées au compte-gouttes normal pèsent 1 gramme, nous voyons que :

I goutte pour	250 cm ³	correspond à une dilution de	1/10.000
I —	5.000	—	1/200.000
I —	10.000	—	1/400.000

De plus cette réaction est spécifique. Dans le cas de l'eau distillée pure la coloration est nulle. La réaction est négative en particulier avec les dérivés pyrroliques, notamment avec la 2-méthylpyrrolidine, avec l'hyoscyamine, la conicine, l'indol.

Cette réaction appliquée au mélange d'alcaloïdes volatils retirés de la Belladone a donné une réaction très nette et l'intensité de la coloration a permis d'apprécier que la quantité de pyridine existant dans le mélange ne devait pas dépasser 2 %.

Séparation des autres bases volatiles.

La difficulté d'obtenir des composés cristallisés permettant la caractérisation des bases volatiles que nous avons séparées, nous avait conduits à penser que l'on se trouvait en présence d'un mélange de bases et non en présence d'un seul alcaloïde volatil.

Notre première préoccupation fut naturellement de chercher à séparer les constituants de ce mélange.

Dans ce but nous avons commencé par déshydrater soigneusement le mélange de bases volatiles, au moyen de la potasse caustique, puis nous avons eu recours à la distillation fractionnée.

Dans une première distillation il a été recueilli trois parties : l'une passant de + 80° à + 90° (vers + 78°, + 79° il passe déjà quelques gouttes), l'autre de + 90° à + 100°, la troisième, très faible, au-dessus de + 100°, (vers + 115°).

Pour nous renseigner sur la composition de chacun de ces fractionnements, nous avons fait les trois séries d'essais ci-après :

1° Réaction vis-à-vis de la phénolphthaléine ;

2° Caractérisation des corps à noyau pyrrolique au moyen des copeaux de sapin ;

3° Caractérisation de la pyridine (réaction colorée dont il a été question à propos de la recherche de la pyridine).

Le tableau ci-après résume les résultats que nous avons obtenus :

1 ^{er} fractionnement de + 80° à + 90°	{	PHTALÉINE	Réaction intense
		NOYAU PYRROL	Réaction faible
		PYRIDINE	Réaction faible
2 ^e fractionnement de + 90° à + 100°	{	PHTALÉINE	Réaction intense
		NOYAU PYRROL	Réaction intense
		PYRIDINE	Réaction faible
3 ^e fractionnement au-dessus de + 100°	{	PHTALÉINE	Réaction faible
		NOYAU PYRROL	Réaction faible
		PYRIDINE	Réaction intense

Il résulte de ces essais que c'est dans le deuxième fractionnement, d'ailleurs le plus important quantitativement, que sont surtout contenues les bases pyrroliques ; le premier fractionnement renferme des bases volatiles fortes, probablement du groupe des amines de la série grasse ; le dernier fractionnement est surtout riche en pyridine.

Caractérisation des bases pyrroliques

Une partie des bases correspondant au deuxième fractionnement est neutralisée par l'acide chlorhydrique dilué. La solution acide obtenue est concentrée au bain-marie, elle prend une teinte rosée et donne après dessiccation dans le vide, une masse cristalline déliquescente, correspondant à un chlorhydrate ou à un mélange de plusieurs chlorhydrates. Ces cristaux repris par une petite quantité d'eau et soumis à l'action de divers réactifs précipitants donnent :

avec l'iodure de bismuth	précipité rouge
avec l'iodure de cadmium	précipité huileux jaune brun
avec le chlorure de platine	précipité relativement soluble
avec l'ac. picrique (1).	précipité assez soluble
avec le chlorure d'or	précipité jaune

1. Le picrate s'obtient plus aisément en traitant la base libre en solution étherée par une solution étherée d'acide picrique.

Nous avons mis à profit la faible solubilité du chloroaurate obtenu pour procéder à une précipitation fractionnée par le chlorure d'or.

Dans ce but une nouvelle partie des bases correspondant au deuxième fractionnement sont traitées comme ci-dessus pour les transformer en chlorhydrates. La masse cristalline obtenue reprise par une petite quantité d'eau est traitée par une solution de chlorure d'or.

Une première précipitation a donné un chloroaurate fondant à $+ 170^{\circ}$.

Une seconde précipitation obtenue après addition d'un excès de chlorure d'or (précipitation totale) a donné un chloroaurate fondant à $+ 152^{\circ}$.

Les eaux-mères concentrées nous ont fourni une nouvelle quantité de chloroaurate.

Le premier chloroaurate repris à chaud par une quantité d'eau assez forte, donne par refroidissement un corps fondant à $+ 190^{\circ}$. Après deux nouvelles cristallisations dans l'eau, il fond encore à $+ 190^{\circ}$. Il se comporte donc comme un corps pur et correspond au *chloroaurate de N-méthylpyrroline*.

Le dosage de l'or effectué dans ce chloroaurate a donné, pour une prise d'essai de 0 gr. 2692, un poids d'or correspondant à 0 gr. 1237, soit 45,95 %, au lieu de 46,47 % prévu par la théorie. (Le poids de l'or % de chloroaurate serait de 48 gr. 16 dans le cas de la pyrroline, de 47,93 dans le cas de la pyrrolidine).

Des eaux mères concentrées nous avons obtenu un autre chloroaurate fondant à $+ 215^{\circ}$, résistant également à la cristallisation fractionnée. Il correspond au *chloroaurate de N-méthylpyrrolidine*.

Or la N-méthylpyrroline distille à $+ 80^{\circ}$ et la N-méthylpyrrolidine de $+ 81^{\circ}$ à $+ 83^{\circ}$. Dans ces conditions nous avons pensé pouvoir retrouver ces corps dans le premier fractionnement, qui avait passé de $+ 80^{\circ}$ à $+ 90^{\circ}$, et qui est, comme

nous, l'avons vu, constitué surtout par des amines. En fait, le traitement de cette partie du distillat a donné directement un chloroaurate fondant à $+ 215^{\circ}$, correspondant à la *N-méthylpyrrolidine*.

Enfin nous avons tenté d'opérer une distillation fractionnée sur ce qui restait du deuxième fractionnement. Les bases ont été préalablement desséchées sur de la potasse pulvérisée, et nous avons recueilli séparément :

1° Une première partie passant de $+ 80^{\circ}$ à $+ 88^{\circ}$.

2° Une seconde partie passant de $+ 90^{\circ}$ à $+ 95^{\circ}$ (environ un volume de cette dernière partie pour deux volumes de la première).

Ce dernier résultat est, comme on le voit, en parfait accord avec les conclusions précédentes, puisque la *N-méthylpyrroline* et la *N-méthylpyrrolidine* passent théoriquement aux environs de $+ 80^{\circ}$.

Au cours de recherches analogues sur la composition chimique des feuilles de Tabac, MM. PICTET et COURT avaient constaté qu'elles renfermaient des bases pyrroliques non substituées à l'azote. Nous avons voulu voir si des bases semblables existaient aussi dans les feuilles de Belladone et nous avons employé pour cette recherche la méthode indiquée par PICTET. C'est ainsi qu'une quantité suffisante de produit a été traitée par le nitrite de soude et l'acide chlorhydrique dans le but d'obtenir des dérivés nitrosés. Pour caractériser la formation de ceux-ci dans nos expériences nous avons eu recours à la réaction de LIEBERMANN.

Dans cette direction tous nos essais furent négatifs.

Nous pensons donc qu'il n'existe pas dans la Belladone de bases pyrroliques non substituées à l'azote et que la *N-méthylpyrroline* et la *N-méthylpyrrolidine* constituent la majeure partie des bases volatiles à noyau pyrrolique contenues dans cette plante.

II. Traitement des liqueurs aqueuses

L'amine ou mieux le groupe des bases aminées de la Belladone, pour ne préjuger de rien, se retrouvent un peu dans tous les fractionnements provenant des opérations précédentes.

Elles existent surtout, comme nous l'avons indiqué au début, dans les liqueurs aqueuses primitives après épuisement par l'éther.

Elles existent dans les eaux provenant des lavages des solutions éthérées d'alcaloïdes.

Enfin on les retrouve aussi en petite quantité dans les solutions éthérées, à côté de la pyridine et des bases pyrroliques ; c'est ainsi qu'elles existent dans la première portion de la distillation fractionnée, celle qui donne une réaction faible avec les copeaux de sapin (dûe à la présence de petites quantités de bases pyrroliques) qui se colore à peine par l'aniline en présence de bromure de cyanogène (traces de pyridine), et qui réagit très nettement à la phénolphthaleïne (réaction due précisément dans ce cas à la présence des amines).

La *solution primitive* a été mise de côté pour un isolement et une caractérisation, si possible, de ces amines.

Les autres fractionnements qui renferment ces bases nous ont servi pour faire les premiers essais tendant à nous renseigner sur la nature de ces amines.

Nous avons donc entrepris deux séries de manipulations parallèles :

1^o Sur les eaux de lavage des solutions éthérées ;

2^o Sur les premières parties provenant de la distillation des bases entraînées par l'éther (1^{er} fractionnement passant de + 80° à + 90°).

Toutes les bases existant dans ces liquides sont neutralisées au moyen de l'acide chlorhydrique et les liqueurs aqueuses

sont évaporées au bain-marie jusqu'à siccité ; les sels obtenus sont repris par une petite quantité d'eau, puis alcalinisés par la soude. La solution alcaline est lavée à l'éther à trois ou quatre reprises, de façon à la débarrasser aussi complètement que possible des bases pyridiques et pyrroliques qu'elle renferme, au risque de perdre dans cette opération une petite quantité des amines.

La solution alcaline est alors distillée dans le vide et les vapeurs barbotent dans de l'acide chlorhydrique étendu. La solution acide obtenue évaporée au bain-marie donne un *chlorhydrate déliquescent*.

Ce chlorhydrate traité par une goutte de lessive de soude présente une odeur désagréable, spermatique, tenace, rappelant l'odeur du tabac, assez difficile à définir. En solution il donne avec le chlorure d'or un chloroaurate assez soluble, fondant vers $+ 200^{\circ}$. L'acide silicotungstique est le réactif le plus sensible permettant de caractériser sa présence. Le picrate et le chloroplatinate sont plus difficiles à obtenir à l'état de pureté, car l'amine ainsi obtenue renferme toujours de l'ammoniaque (1).

Le chlorhydrate chauffé dans un tube à essai en présence d'acide chlorhydrique donne des *vapeurs colorant en rouge intense un copeau de sapin imprégné d'acide chlorhydrique*.

Il n'y a pas lieu de penser que cette réaction, étant donnée son intensité, puisse être attribuée à des dérivés pyrroliques non entraînés par l'éther. Les lavages à l'éther ont été assez prolongés pour les éliminer. D'autre part la réaction à l'aniline et au bromure de cyanogène, si sensible pour la recherche de la pyridine, nous guide ici en partie. Le chlorhydrate primitif donnait une réaction nettement positive. Le chlorhydrate obtenu après traitement à l'éther ne la donne plus. La pyridine ayant été ainsi enlevée, il est normal de supposer qu'il en est de même pour les dérivés pyrroliques qui se comportent

1. La caractérisation de traces d'ammoniaque en présence d'amines nous a toujours préoccupé au cours de ces recherches. En raison de son importance, cette question fait l'objet d'un chapitre spécial.

généralement comme la pyridine à l'égard des divers solvants.

On se trouve donc en présence d'une *diamine* donnant naissance dans ces conditions à un *noyau pyrrolique* par cyclisation de sa chaîne. Cette diamine doit être en C4, ou tout au moins ses deux atomes d'azote doivent être attachés à deux atomes de carbone en position 1-4 l'un par rapport à l'autre.

Par analogie avec ce qui existe dans la Jusquiame, nous avons pensé à la présence du tétraméthyldiaminobutane. Ce dernier donne un chloroaurate fondant vers $+200^{\circ}$ et se décomposant vers $+208^{\circ}$. Ayant eu cette base à notre disposition nous avons cherché quel était le sel le plus convenable pour une séparation. Le chlorhydrate est déliquescent, le nitrate au contraire est bien cristallisé.

Nous avons donc essayé de transformer notre chlorhydrate en nitrate en le traitant par une quantité strictement nécessaire de nitrate d'argent. (Le chlorure d'argent est séparé par filtration. La solution contenant les nitrates d'amines est abandonnée à la cristallisation dans le vide sulfurique.)

Cette opération faite avec le chlorhydrate de tétraméthyldiaminobutane donne aisément le nitrate ; avec le chlorhydrate mis en expérience on obtient seulement un produit déliquescent.

Il ne semble donc pas que la diamine qui se trouve dans la Belladone soit le tétraméthyldiaminobutane.

Nous avons alors essayé d'obtenir une plus grande quantité d'amine à partir de la *solution primitive* débarrassée comme il a été dit de la majeure partie des alcaloïdes fixes et volatils.

Dans ce but la solution primitive alcaline est distillée dans le vide. Au début il passe très peu de vapeurs alcalines. La proportion va en augmentant vers la fin de l'opération, mais il distille en même temps de l'ammoniac. La base paraît donc se comporter comme un corps très soluble dans l'eau, peu entraînable par la vapeur d'eau, et décomposable en solution alcaline.

line concentrée et chaude avec mise en liberté d'ammoniaque.

Quoiqu'il en soit nous avons ainsi distillé toute la solution primitive (40 litres environ). Le distillat a été recueilli dans une solution diluée d'acide chlorhydrique. L'évaporation à sec de ces liqueurs acides a donné 15 à 20 grammes d'un mélange de chlorhydrate d'ammoniaque et de chlorhydrates d'amines.

Nous avons fait une première séparation de ces sels au moyen de l'alcool absolu ; puis dans l'espoir d'obtenir une séparation plus parfaite, nous avons traité le chlorhydrate d'amine encore chargé d'un peu de chlorhydrate d'ammoniaque, par l'acide silicotungstique. Nous avons obtenu ainsi 20 à 25 grammes de silicotungstate, qui devait correspondre à environ 3 à 4 grammes de base.

Dans le but de régénérer l'amine, le silicotungstate, d'abord bien lavé, pour le débarrasser de toute trace d'ammoniaque, a été traité une partie par une solution aqueuse de soude caustique, une autre partie par une solution de carbonate de soude et distillé.

Que l'alcali employé soit la soude ou le carbonate de soude, la base est décomposée pendant la distillation et nous avons recueilli en grande partie de l'ammoniaque. Cette opération malheureuse nous a enlevé toute possibilité de pousser plus loin nos recherches.

CHAPITRE III

Séparation de l'ammoniaque et des amines Caractérisation de l'ammoniaque en présence des amines

Nous avons signalé précédemment qu'au cours des recherches pour la caractérisation des amines volatiles contenues dans les feuilles de Belladone, on a toujours rencontré à côté des amines une certaine quantité d'ammoniaque.

La séparation de l'ammoniaque et des amines, ainsi que la recherche de petites quantités d'ammoniaque en présence des amines, sont deux problèmes dont nous avons eu constamment à nous préoccuper au cours de ce travail.

I. Méthodes suivies pour la séparation de l'ammoniaque et des amines

Nous avons employé successivement :

- 1° Le procédé de WURTZ à l'alcool absolu ;
- 2° Le procédé de M. FRANÇOIS ;
- 3° La précipitation par l'acide silicotungstique.

1° Le procédé de WURTZ repose sur l'insolubilité du chlorhydrate d'ammoniaque dans l'alcool absolu et sur la solubilité des chlorhydrates d'amines dans ce même dissolvant.

L'application de cette méthode nous a donné des résultats très imparfaits. Les sels soumis à ce traitement retiennent encore une forte proportion de chlorhydrate d'ammoniaque.

Nous ne pouvons que confirmer les conclusions de M. BER-

THEAUME (1) qui a fait une étude très approfondie de cette question.

2^o M. FRANÇOIS a montré que l'oxyde jaune de mercure se retient intégralement le gaz ammoniac en formant l'oxyde ammonio-mercurique. L'oxyde jaune de mercure fixe également et complètement l'ammoniaque en liqueur aqueuse en présence de petites quantités d'alcali. L'auteur a appliqué ces résultats à deux méthodes de séparation de l'ammoniaque, l'une par voie sèche, l'autre par voie humide.

Cette dernière méthode, que nous avons seule utilisée, est précieuse pour débarrasser complètement une amine de l'ammoniaque qu'elle contient. Nous y avons eu recours pour la purification de certaines amines dont il a été fait usage au cours de ces expériences.

Nous l'avons appliquée également à la purification du mélange de chlorhydrate d'ammoniaque et de chlorhydrate d'amine retiré des feuilles de Belladone. La quantité de sels à purifier était de 15 à 20 grammes ; le mélange, riche en chlorhydrate d'ammoniaque, a d'abord été traité par l'alcool absolu dans le but d'éliminer une partie du chlorhydrate d'ammoniaque. C'est alors que nous avons tenté de poursuivre la purification en utilisant la méthode de M. FRANÇOIS (2) : le sel préalablement dissous et additionné de soude et de carbonate de soude a été agité longuement avec de l'oxyde jaune de mercure ; le liquide décanté, pour le séparer de l'oxyde jaune de mercure, renfermait encore une forte proportion d'ammoniaque. Nous avons recommencé la même opération une seconde et une troisième fois en renouvelant pour chaque traitement la quantité d'oxyde jaune de mercure. Après trois traitements semblables la liqueur, bien qu'enrichie en amines, renfermait encore une quantité d'ammoniaque assez forte pour que la méthode nous parût difficilement applicable dans ce cas particulier.

1. Bertheaume. *Sur la séparation des méthylamines*. Th. Doct. Univ. (Pharmacie), Paris, 1910, 30.

2. M. FRANÇOIS. *C. R. Ac. Sc.*, **144**, 568, 1907.

3° Nous avons pensé être plus heureux en séparant les amines à l'état de silicotungstate. Le précipité de silicotungstate était à peu près insoluble dans l'eau, facile à laver pour l'entraînement des dernières traces d'ammoniaque. Malheureusement, comme nous l'avons indiqué d'autre part, lorsqu'on veut régénérer l'amine à partir du silicotungstate par traitement au moyen d'un alcalin ou d'un carbonate alcalin, suivi de distillation, il y a décomposition partielle de l'amine, qui se trouve de nouveau mêlée avec de l'ammoniaque.

II. Caractérisation de l'ammoniaque en présence des amines

Pour suivre la marche de la purification d'une amine souillée de sels ammoniacaux il est nécessaire de posséder une méthode suffisamment sensible permettant d'y déceler la présence de petites quantités d'ammoniaque.

Procédé de M. François

Nous avons utilisé dans ce but un réactif indiqué par M. FRANÇOIS (1) pour la recherche de l'ammoniaque en présence des amines. Ce réactif, analogue au réactif de Nessler, contient par litre :

HgI ²	22 gr. 7
KI	33
NaOH	35 (quantité déterminée par dosage)

L'auteur indique le mode opératoire ci-après :

« On pèse 0 gr. 10 du chlorhydrate de méthylamine à essayer, on les fait tomber dans une petite éprouvette graduée de 20 cm³ ; par addition de 15 cm³ d'eau on dissout le sel ; on ajoute 5 cm³ du réactif et fait passer le mélange dans un tube à essai qu'on chauffe lentement en le promenant dans la flamme d'une lampe à alcool jusqu'à ce qu'il se produise dans le liquide de fines bulles gazeuses.

1. M. FRANÇOIS. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, **144**, 857, 1907.

Avec le chlorhydrate de méthylamine exempt d'ammoniaque, purifié par l'oxyde jaune de mercure, la liqueur reste limpide et incolore.

Avec le même chlorhydrate mélangé de 1/1000 de chlorhydrate d'ammoniaque, la liqueur reste encore limpide et incolore.

Avec le même chlorhydrate mélangé de 2/1000 de chlorhydrate d'ammoniaque, la liqueur incolore et limpide à froid, fournit à chaud un précipité rouge brun abondant.

Avec un chlorhydrate plus riche en ammoniaque, le précipité brun pourrait se produire à froid. »

Ce procédé est utilisable pour la recherche de l'ammoniaque en présence des premières amines de la série grasse.

En présence des amines plus élevées dans la série, le réactif de M. FRANÇOIS donne généralement lieu à la formation de précipités ; ceux-ci sont le plus souvent de couleur blanche et se distinguent nettement des précipités dûs à l'ammoniaque. Néanmoins étant donnée leur grande intensité, ils peuvent dans certains cas, amener quelque difficulté pour l'interprétation des résultats.

Aussi au cours de ces essais nous avons utilisé, parallèlement à la méthode précédente, un nouveau procédé permettant de déceler aisément la présence d'ammoniaque dans les amines.

Caractérisation de l'ammoniaque à l'état d'oxalate

Le réactif utilisé est une solution d'acide oxalique dans l'alcool absolu.

Pour faire la réaction on prélève une petite quantité du produit à essayer (0 gr. 10 environ) préalablement bien desséché, que l'on dissout dans 2 à 3 cm³ d'alcool absolu. On filtre, s'il y a lieu, sur un petit filtre sans plis, mouillé auparavant au moyen d'une petite quantité d'alcool absolu.

La solution obtenue est additionnée de 1 à 2 cm³ de réactif.

Dans ces conditions la présence de l'ammoniaque se mani-

teste par la formation d'un précipité cristallin d'oxalate d'ammoniaque insoluble dans l'alcool absolu.

Dans le cas de la présence d'ammoniaque en quantités importantes la précipitation est très rapide ; dans le cas de très petites doses d'ammoniaque, le précipité se forme lentement et n'apparaît qu'après un certain temps (24 heures par exemple).

Ce procédé permet de déceler la présence de 0 gr. 002 de chlorhydrate d'ammoniaque en présence de 0 gr. 10 de chlorhydrate de méthylamine.

Précautions à prendre pour effectuer cette réaction.

La valeur des résultats dépend beaucoup de la qualité des réactifs employés.

1^o L'alcool doit être *absolu*. La présence de petites quantités d'eau diminue dans de fortes proportions la sensibilité de la réaction. Ceci se comprend aisément, puisque l'oxalate d'ammoniaque est très soluble dans l'eau.

2^o Le réactif constitué par la solution d'acide oxalique dans l'alcool absolu doit être préparé extemporanément. On se trouve en effet en présence d'un système de corps en état d'équilibre instable ; au contact de l'acide oxalique une partie de l'alcool s'éthérifie peu à peu avec mise en liberté d'une quantité correspondante d'eau, et c'est probablement la formation de cette eau qui intervient pour diminuer, puis annihiler la valeur de cette solution comme réactif. En fait un réactif préparé un jour ne devra jamais servir le jour suivant ; et dans tous les cas il est recommandable de faire une expérience témoin en employant une solution de chlorhydrate d'ammoniaque dans l'alcool absolu pour éprouver la qualité du réactif.

Spécificité de la réaction.

La réaction que nous venons d'exposer suppose évidemment que les amines souillées d'ammoniaque ne sont pas précipitées

elles-mêmes par l'acide oxalique dans les conditions de l'expérience.

Nous avons constaté que cette condition est satisfaite pour les amines et composés basiques ci-après :

Monométhylamine, Ethylamine, Propylamine, Isopropylamine, Isobutylamine, Butylamine 2, Diméthylamine, Triméthylamine, Diéthylamine, Dipropylamine, Dibutylamine 2, Pyridine, Isoquinoléine, Naphtylamine β, Pipéridine.

Aucun de ces corps n'ont donné de précipité par l'acide oxalique en liqueur alcoolique.

Sortant même du groupe des composés basiques nous avons voulu nous rendre compte de quelle façon se comportent certains composés, tels que l'*Indol* et le *Scatol*, dans ces expériences : aucun de ces corps ne précipite par l'acide oxalique en liqueur alcoolique.

Cette réaction peut donc être considérée comme *spécifique* pour la caractérisation de l'ammoniaque dans les amines.

DEUXIEME PARTIE

Influence des alcaloïdes volatils sur le titrage pharmacodynamique de la Belladone et de ses préparations

Nous avons rappelé au début de ce travail comment M. BEAUSITE avait été conduit à diviser les méthodes utilisées pour effectuer les titrages des extraits de Belladone en deux groupes :

a) Méthodes dans lesquelles, après avoir séparé les alcaloïdes sous forme de solution éthéro-chloroformique, on procède à la distillation de ce mélange, et à la dessiccation à l'étuve du résidu alcaloïdique. (Pharmacopées allemande, helvétique, anglaise).

b) Méthodes dans lesquelles les solutions éthéro-chloroformiques d'alcaloïdes sont reprises directement par l'acide sulfurique centinormal, sans distillation et dessiccation préalables. (Pharmacopées française et belge).

L'application des différentes méthodes au dosage d'un extrait de Belladone conduit à des résultats présentant entre eux des divergences parfois importantes, et d'une façon générale les résultats fournis par les méthodes du second groupe sont toujours plus élevés que ceux fournis par les méthodes du premier groupe.

M. BEAUSITE rattachait toutes ces anomalies à la présence d'alcaloïdes volatils, qu'il supposait exister dans l'extrait de Belladone. Dans cette hypothèse les méthodes du premier groupe conduiraient à des résultats représentant le poids des alcaloïdes fixes contenus dans l'extrait ; les méthodes du second groupe donneraient au contraire le poids des alcaloïdes totaux (fixes et volatils) qu'il renferme. La différence entre les résultats ainsi obtenus correspondrait précisément aux alcaloïdes volatils.

Nous savons maintenant que les feuilles de Belladone renferment des bases volatiles ; pour vérifier le bien-fondé des idées émises par M. BEAUSITE, il nous reste donc à étudier la façon dont se comportent ces bases lorsqu'on fait application à un extrait des différentes méthodes de dosage.

Si l'on envisage les méthodes de dosage du premier groupe dans lesquelles les alcaloïdes une fois séparés subissent une dessiccation à l'étuve à $+ 100^{\circ}$, il est bien évident que dans ces procédés les alcaloïdes fixes sont seuls dosés.

Nous avons donc à étudier plus spécialement ce que deviennent les bases volatiles au cours d'un dosage effectué selon l'une des méthodes du second groupe, la méthode du Codex français par exemple. Les bases volatiles y sont-elles dosées en même temps que les alcaloïdes fixes ; sont-elles dosées en totalité ou bien seulement en partie ; ou bien échappent-elles complètement au dosage ?

Pour aborder cette étude nous avons mis en expérience une quantité d'extrait de Belladone suffisante pour qu'il soit possible de suivre les migrations des bases volatiles au cours des diverses manipulations, que nécessitent les dosages. Nos essais ont porté sur 60 grammes de produit.

L'extrait est dissous dans une certaine quantité d'eau et alcalinisé par une solution de carbonate de soude à 25 % employée en excès, puis on effectue un épuisement à l'éther. Après agitation prolongée suivie de repos, l'éther est décanté.

On renouvelle le même traitement à l'éther à trois reprises.

Les liqueurs éthérées sont réunies, puis desséchées au moyen de carbonate de soude sec et enfin distillées à température aussi basse que possible.

L'éther provenant de cette distillation est traité par une petite quantité d'acide chlorhydrique étendu. *La liqueur acide décantée contient de faibles quantités de bases volatiles à l'état de chlorhydrates.*

Le résidu de la distillation, constitué en grande partie par les alcaloïdes fixes contenus dans la prise d'essai, est soumis à l'action prolongée d'un courant d'air à une température de + 100°. Avant de s'échapper au dehors le courant d'air traverse un flacon laveur contenant de l'acide chlorhydrique étendu. Lorsque l'opération a duré un temps jugé suffisant (une heure environ) les liqueurs acides contenues dans le flacon laveur sont recueillies et évaporées au bain-marie jusqu'à siccité, pour éliminer toute trace d'acide chlorhydrique. *Il reste finalement un résidu assez faible constitué par un mélange de bases volatiles à l'état de chlorhydrates.* Ces sels sont repris par une petite quantité d'eau. La solution obtenue traitée par la soude présente une odeur forte, très spéciale, rappelant le vieux tabac. Elle est précipitée par les réactifs de Bouchardat, de Valser, de Nessler (précipité blanc), par le chlorure de platine. L'acide silicotungstique, le chlorure d'or ne nous ont pas donné de précipité (1).

Plusieurs conclusions sont à retenir de ce premier essai :

1° *Les bases volatiles contenues dans l'extract de Belladone sont entraînées par l'éther, au moins en partie, lorsqu'on effectue un dosage ;*

2° *La quantité de ces bases, qui entre en solution dans l'éther, se trouve dosée en même temps que les alcaloïdes fixes dans les procédés qui recommandent de reprendre directement les liqueurs*

1. Cette absence de précipitation était due vraisemblablement à la trop faible quantité des bases volatiles se trouvant en expérience.

éthérées par l'acide sulfurique centinormal sans dessiccation préalable des alcaloïdes à l'étuve ;

3° Les bases volatiles sont bien éliminées au moment de la distillation suivie de dessiccation à l'étuve à + 100° que recommandent certaines Pharmacopées ; leur départ explique la diminution que l'on constate dans le taux des alcaloïdes en opérant dans ces conditions.

Pour nous rendre compte si les résultats des dosages effectués suivant la méthode du Codex français correspondent à la somme alcaloïdes fixes + alcaloïdes volatils contenus dans l'extrait de Belladone, ou bien s'ils expriment le poids des alcaloïdes fixes augmenté seulement d'une certaine fraction de la totalité des alcaloïdes volatils contenus dans la prise d'essai, il nous faudrait posséder un extrait de Belladone dont on connaîtrait exactement la teneur en bases volatiles. Nous doserions alors dans cet extrait :

1° Les alcaloïdes fixes et volatils en suivant la méthode du Codex ;

2° Les alcaloïdes fixes, en utilisant une méthode analogue, mais en prenant la précaution de distiller complètement les liqueurs éthéro-chloroformiques et de soumettre le résidu à l'étuve à + 100° avant de le reprendre par l'acide sulfurique centinormal.

Par différence entre les résultats de ces deux dosages, on connaîtrait la part revenant aux alcaloïdes volatils dans un titrage effectué suivant la méthode du Codex français.

Connaissant d'autre part la richesse en alcaloïdes volatils de l'extrait soumis à l'analyse, on aurait toutes les données pour établir la valeur du rapport $\frac{\text{alcaloïdes volatils dosés}}{\text{alcaloïdes volatils totaux}}$.

Si en particulier on trouvait pour ce rapport une valeur voisine de l'unité, on serait amené à conclure que les résultats des dosages effectués suivant la méthode du Codex français représentent exactement la somme alcaloïdes fixes + alcaloïdes volatils contenus dans l'extrait.

Mais précisément on ne possède pas de procédé permettant de connaître avec le degré de précision voulu la quantité de bases volatiles existant dans un extrait de Belladone.

Aussi pour répondre à la question que nous nous étions posés, a-t-il été nécessaire de donner une orientation différente aux recherches ; c'est alors que nous nous sommes proposés d'étudier le rôle joué dans les dosages d'extrait de Belladone (procédé français) par quelques types de bases volatiles, de plus en plus complexes, depuis l'ammoniaque jusqu'aux bases pyrroliques. Dans ce but nous avons entrepris toute une série de dosages en suivant la technique indiquée par le Codex pour le titrage de l'extrait de Belladone, mais en substituant à l'extrait de Belladone une quantité connue des bases volatiles (ou de leurs sels), que nous voulions étudier.

Les résultats de ces analyses ont permis d'établir pour chaque base volatile la valeur du rapport :

$$\frac{\text{quantité de base dosée}}{\text{quantité de base mise en expérience}}$$

et la connaissance de ce rapport donne pour chaque base une notion précise de la façon dont elle se comporte dans les dosages.

I. Influence de l'ammoniaque

Nos premiers essais ont porté sur l'ammoniaque. Nous avons opéré sur 1 gramme de chlorhydrate d'ammoniaque. Le sel a été dissous dans 10 grammes d'alcool à 60° et le soluté obtenu a été traité par 50 grammes d'éther, 20 grammes de chloroforme, et 10 cm³ de solution de carbonate de soude à 25 %. Après agitation prolongée, suivie de repos, nous avons recueilli 50 grammes du mélange éthéro-chloroformique correspondant sensiblement aux 2/3 de la prise d'essai. Ce dernier avait une réaction nettement alcaline. Nous l'avons traité par 25 centimètres cubes d'acide sulfurique centinormal. La solution acide décantée et additionnée des eaux provenant du lavage du mélange éthéro-chloroformique a été neutralisée au

moyen de la soude centinormale, en employant l'iodéosine comme indicateur.

La quantité de soude nécessaire à la neutralisation a été de 2 cm³. La quantité d'ammoniaque entraînée par le mélange éthéro-chloroformique correspondait donc à 23 cm³ d'acide sulfurique centinormal, soit à 23 cm³ $\times$ 3/2 pour la totalité des liqueurs éthéro-chloroformiques.

Le même essai renouvelé, mais en prenant la précaution, comme le recommande le Codex, de distiller les liqueurs éthéro-chloroformiques *jusqu'à réduction à la moitié de leur poids*, avant le traitement par l'acide sulfurique centinormal, a montré que dans ce cas la quantité de cet acide ayant servi à la neutralisation de l'ammoniaque était inférieure à 0 cm³ 3 et pratiquement négligeable.

Dans ces expériences nous avons employé à dessein une forte quantité d'ammoniaque. Malgré cette précaution on voit que la quantité d'ammoniaque entraînée par l'éther et le chloroforme dans le premier essai est relativement faible, puisque cette quantité correspond seulement à 23 cm³ $\times$ 3/2 d'ammoniaque centinormal, alors que la quantité d'ammoniaque mise en expérience correspond à une quantité de solution centinormale voisine de 2 litres.

Le second de nos essais montre que la petite quantité d'ammoniaque entraînée par l'éther-chloroforme est chassée presque en totalité au moment de la réduction des liqueurs éthéro-chloroformiques à la moitié de leur poids, par distillation.

Si l'on remarque que les conditions de la seconde expérience ne diffèrent en aucun point de celles indiquées par le Codex à propos du dosage de l'extrait de Belladone, nous sommes en droit de conclure que *pratiquement l'ammoniaque n'apporte aucune perturbation dans le dosage de l'extrait de Belladone effectué suivant la méthode du Codex français.*

II. Influence des bases volatiles

Il résulte de ce qui précède que la proportion des bases volatiles venant influencer les résultats des dosages effectués selon la méthode du Codex français correspond à la quantité de ces bases entraînées par le mélange éthéro-chloroformique, de laquelle il y a lieu de retrancher la quantité des bases chassées au moment de la réduction des liqueurs éthéro-chloroformiques à la moitié de leur poids par distillation.

Si l'on compare entre elles des bases volatiles de poids moléculaires de plus en plus élevés, on remarque que, d'une façon générale, au fur et à mesure que la molécule devient plus complexe, la solubilité dans l'eau diminue, la solubilité dans le mélange éthéro-chloroformique augmente, la volatilité diminue. Les bases les plus simples qui sont très solubles dans l'eau et très volatiles (1), ne doivent donc influencer que faiblement les résultats des dosages, tandis que les bases plus complexes doivent tendre à se comporter de plus en plus dans les dosages comme des alcaloïdes fixes.

Pour vérifier le bien-fondé de ces prévisions, nous avons répété, pour quelques sels, ce qui avait été fait pour le chlorhydrate d'ammoniaque, en nous plaçant immédiatement dans les conditions du second essai, c'est-à-dire en soumettant les liqueurs éthéro-chloroformiques à la distillation avant de reprendre par l'acide sulfurique centinormal. (Mode opératoire indiqué par le Codex pour le titrage de l'extrait de Belladone.)

Le sel ou la base étant dissous dans l'alcool à 60° (10 grammes), on traite la solution successivement par 50 grammes d'éther, 20 grammes de chloroforme, 10 cm de solution de carbonate de soude à 25 %. Après agitation pro-

1. Etant très solubles dans l'eau ces bases ne sont entraînées que partiellement par le mélange éthéro-chloroformique. Etant très volatiles elles sont éliminées, en grande partie, au moment de la distillation des liqueurs éthéro-chloroformiques.

longée, suivie de repos, on décante les liqueurs éthéro-chloroformiques dont on prélève 50 grammes, correspondant sensiblement aux deux tiers de la prise d'essai. Les liqueurs éthéro-chloroformiques, étant réduites par distillation à la moitié de leur poids, sont ensuite reprises par des quantités connues d'acide sulfurique centinormal (25 ou 50 cm³). Les liqueurs acides sont décantées, le mélange éthéro-chloroformique est lavé à trois reprises avec quelques centimètres cubes d'eau distillée, et les eaux provenant du lavage sont réunies aux liqueurs acides. On dose alors l'acidité restée libre au moyen de la soude centinormale, en utilisant l'iodéosine comme indicateur.

Dans les dosages d'extrait de Belladone effectués selon la méthode du Codex, les alcaloïdes sont titrés au moyen d'une solution centinormale d'acide sulfurique. Que les bases ainsi dosées soient de l'atropine ou des bases de poids moléculaire différent, le Codex n'en tient pas compte et les résultats sont évalués en poids d'atropine. Autrement dit, à un facteur constant près, 0 gr. 00289 dans le cas présent, (ce facteur représente le poids d'atropine, exprimé en grammes, auquel correspond 1 cm de solution centinormale d'acide sulfurique) les résultats du Codex représentent le nombre de centimètres cubes de solution centinormale de base auxquels correspondent les alcaloïdes.

C'est pour nous rapprocher de ces conditions que dans ce qui suit nous faisons figurer à côté du poids des substances mises en expérience, la quantité de solution centinormale de base à laquelle il correspond. Les résultats des dosages sont exprimés également en volume de solution centinormale, puis évalués finalement en poids d'atropine selon les indications du Codex.

Cette notation offre l'avantage de bien faire ressortir dans quelle proportion les résultats pondéraux donnés par le Codex se trouvent être supérieurs à la totalité des alcaloïdes réellement titrés, et comment, de ce fait, la présence d'alcaloïdes

volatils, même en faible proportion, est un facteur dont il y a lieu de tenir compte dans les dosages.

La manière dont se comportent les bases volatiles dans ces essais se déduit, comme il a été dit, de la comparaison entre la quantité de base mise en expérience et la quantité de base finalement dosée. Aussi pour chacune d'elles nous établissons la valeur du rapport $\frac{\text{alcali dosé}}{\text{prise d'essai}}$ qui nous permet d'exprimer cette comparaison sous une forme précise.

Dans une première série de dosages nous avons opéré sur des quantités de sels ou de bases tout à fait arbitraires.

Le tableau ci-après fait connaître les résultats de ces expériences :

	PRISE D'ESSAI exprimée en		ALCALI DOSÉ exprimé en		RAPPORT $\frac{\text{Alcali dosé}}{\text{Prise d'essai}}$
	Poids	Sol. N/100	Sol. N/100	Atropine	
	gr.	cmc.	cmc.	gr.	
<i>Chl. d'ammoniaque...</i>	1	1870	0,3	»	voisin de 0
<i>Chl. de méthylamine...</i>	0,50	740	7,5	0,0217	0,01
<i>id.</i>	0,10	148	5,4	0,0156	0,036
<i>Chl. de propylamine...</i>	0,016	16,7	7,5	0,0217	0,44
<i>Nitrate tétraméthyl- aminobutane.....</i>	0,10	74	43,5	0,126	0,58
<i>Méthyl-3-pyrrolidine...</i>	0,026	30	25,12	0,0726	0,82

Pour nous placer dans des conditions plus comparables entre elles, il nous a paru convenable de reprendre ces dosages en utilisant comme prises d'essai des quantités de sels ou de bases équivalentes au point de vue acidimétrique, correspondant donc pour chacun d'eux à une même fraction de leur

poids moléculaire pour les corps monobasiques (ou à une même fraction du demi-poids moléculaire pour les corps bibasiques).

Les résultats que nous avons ainsi obtenus sont consignés dans le tableau ci-après :

	PRISE D'ESSAI EXPRIMÉE EN		ALCALI DOSÉ EXPRIMÉ EN		RAPPORT <i>Alcali dosé</i> <i>Prise d'essai</i>
	Poids	Sol. N / 10	Sol. N/100	Atropine	
	gr.	cmc.	cmc.	gr.	
<i>Chl. de méthylamine.</i>	0,02	30	2,55	0,0074	0,08
<i>Chl. de propylamine...</i>	0,028	30	13,2	0,038	0,44
<i>Nitrate de tétraméthyl- diaminobutane.....</i>	0,04	30	23,4	0,0676	0,78
<i>Méthyl-3-pyrrolidine...</i>	0,026	30 (1)	25,12	0,0726	0,82
1. Exactement 30 cmc. 45.					

La comparaison des deux tableaux précédents montre que la valeur du rapport $\frac{\text{alcali dosé}}{\text{prise d'essai}}$ n'est pas une quantité constante pour une même base, mais varie avec la quantité de celle-ci mise en expérience. Lorsque la prise d'essai diminue, ce rapport augmente : c'est ainsi que pour le chlorhydrate de mono-méthylamine, par exemple, il prend successivement pour valeur 0,01, 0,036 et 0,08 quand la prise d'essai décroît de 0,50 à 0,10 et de 0,10 à 0,02 ; pour le nitrate de tétraméthyl-diaminobutane il passe de 0,58 à 0,78 quand la prise d'essai varie de 0,10 à 0,04.

Les quantités de sels mises en expérience dans nos essais (2^e tableau), correspondant à 30 cmc. de solution centinormale de base, sont manifestement supérieures aux quantités de bases

volatiles existant dans 2 grammes d'extrait de Belladone, quantité généralement employée comme prise d'essai pour un dosage.

Il en résulte que les valeurs que nous avons trouvées pour les rapports $\frac{\text{alcali dosé}}{\text{prise d'essai}}$ sont inférieures, ou au plus égales, à celles que nous aurions obtenues si nous nous étions rapprochés davantage des conditions qui se trouvent être réalisées lorsqu'on opère le dosage d'un extrait de Belladone.

Autrement dit, si l'on envisage par exemple le cas des bases pyrroliques contenues dans l'extrait de Belladone, nos résultats nous permettent de conclure que sur 100 parties de ces bases, existant dans une prise d'échantillon, 82 parties au moins, et probablement une quantité plus grande, sont dosées lorsqu'on fait le titrage selon la méthode du Codex.

Nous pouvons résumer brièvement ces résultats en disant que pratiquement *les bases pyrroliques contenues dans un extrait de Belladone interviennent presque en totalité dans les dosages effectués suivant la méthode du Codex Français.*

La manière dont se comportent les différentes amines dans ces expériences est venue confirmer, dans leur ensemble, nos prévisions :

La monométhylamine et la propylamine se comportent comme des bases très solubles dans l'eau et très volatiles ; toutefois il est intéressant de remarquer que la méthylamine et surtout la propylamine se comportent déjà d'une façon bien différente de l'ammoniaque.

Le tétraméthyldiaminobutane et la méthylpyrrolidine se comportent comme des bases complexes intervenant dans ces dosages d'une façon qui les rapproche beaucoup des alcaloïdes fixes. Ce fait est digne de remarque ; si en effet les *bases pyrroliques* et les *diamines* n'entrent que pour une faible proportion dans la totalité des alcaloïdes de la Belladone, par contre elles interviennent presque quantitativement dans les dosages et sont exprimées dans les résultats en poids d'atropine, base de poids moléculaire beaucoup plus élevé. (Pour une prise d'essai

correspondant à 0 gr. 026 de méthyl-3-pyrrolidine, le résultat accuse une teneur en atropine de 0 gr. 0726).

III. Influence de la Pyridine

Nous avons cherché également à nous rendre compte de l'influence que pouvait avoir la présence de la pyridine sur les résultats des dosages. Mais ce corps donne un virage peu net avec l'iodéosine, ce qui rend son dosage acidimétrique difficile, sinon impossible en présence de cet indicateur.

Cette raison, à laquelle on peut ajouter la très faible proportion dans laquelle la pyridine existe dans la Belladone, nous paraît suffisante pour nous convaincre du peu d'importance qu'il y a lieu d'attacher au rôle joué par la pyridine dans les dosages.

CONCLUSIONS

En abordant ces recherches nous nous étions proposés de vérifier l'hypothèse émise par M. BEAUSITE sur l'existence d'alcaloïdes volatils dans les feuilles de Belladone et sur le rôle joué par ces bases dans les différentes méthodes de dosages utilisées pour déterminer la teneur de la plante en alcaloïdes.

De ce fait notre travail comprend deux parties :

Dans l'une nous nous attachons à mettre en évidence l'existence de bases volatiles dans les feuilles de Belladone.

Dans l'autre nous étudions la manière dont se comportent ces bases au cours des titrages des préparations de Belladone.

La première partie comprend l'exposé des méthodes adoptées pour la séparation et la caractérisation des bases volatiles.

Nous avons pu caractériser :

La N-méthyl-pyrroline ;

La N-méthyl-pyrrolidine ;

La Pyridine.

Nous avons signalé en outre l'existence d'une *diamine de la série grasse* donnant aisément naissance à des dérivés pyrroliques par cyclisation de sa chaîne.

Au moment de son extraction, cette diamine est accompagnée d'une certaine proportion d'ammoniaque dont il est difficile de la débarrasser complètement.

Nous avons donc été conduits accessoirement à envisager le problème de la *séparation de l'ammoniaque et des amines* et nous avons indiqué une *réaction permettant de caractériser la présence de petites quantités d'ammoniaque dans les amines.*

Nous avons fait connaître également une *méthode très sensible pour la caractérisation de la pyridine pure ou accompagnée d'autres bases.*

La présence de bases volatiles dans les *feuilles de Belladone* étant dès lors indiscutable, nous nous sommes proposés de rechercher comment se comportaient ces bases dans les différentes méthodes de dosages qui sont utilisées pour déterminer la teneur en alcaloïdes des préparations de Belladone. Cette étude fait l'objet de la seconde partie de ce travail ; elle nous a conduits à formuler des conclusions qui sont venues confirmer en tous points les idées de M. BEAUSITE.

Comme lui nous divisons les méthodes employées pour faire ces dosages en deux groupes :

Dans les unes les alcaloïdes préalablement séparés sous forme de solution éthéro-chloroformique, sont titrés directement au moyen d'une solution acide centinormale.

Dans les autres les alcaloïdes une fois isolés subissent une dessiccation à l'étuve à $+ 100^{\circ}$ avant d'être titrés soit pondéralement, soit volumétriquement.

En opérant suivant les premières méthodes (Pharmacopées française et belge), on dose en même temps que les alcaloïdes fixes une fraction importante des alcaloïdes volatils.

Au contraire, en opérant suivant les secondes méthodes (Pharmacopées anglaise et allemande) on dose uniquement les alcaloïdes fixes et les résultats ainsi obtenus sont plus faibles.

Il est par suite inutile d'insister sur l'intérêt à la fois théorique et commercial qui s'attacherait à l'unification des procédés de dosage inscrits dans les différentes Pharmacopées, d'autant plus que ces bases pyrroliques ne sont peut-être pas sans action pharmacodynamique.

Nous avons rappelé au début de ce travail quel était l'état actuel des connaissances sur l'origine des alcaloïdes ; nous avons montré comment la détermination de tous les principes immédiats contenus dans une plante pouvait nous amener à une meilleure compréhension des phénomènes chimiques qui se passent à l'intérieur du végétal. Quel bénéfice peut-on retirer à ce point de vue des faits nouvellement acquis ?

Evidemment ces faits tirés de l'étude d'un seul végétal ne

sauraient apporter tous les éclaircissements voulus sur un problème dont la solution exigera encore de multiples expériences. Mais tout au moins il nous est possible de constater dans quelle mesure ils s'accordent avec certaines des théories actuellement en cours pour expliquer la genèse des alcaloïdes.

PICTET fait dériver les alcaloïdes des *matières protéïques* qui donneraient comme produits intermédiaires des composés *pyrroliques* ; le passage des dérivés *pyrroliques* aux composés *pyridiques* se ferait aisément par migration d'un atome de carbone d'une chaîne latérale dans le noyau.

La juxtaposition dans la Belladone de bases *pyrroliques* et *pyridiques* à côté de l'*atropine* et de l'*hyoscyamine* peut être regardée comme une confirmation de cette théorie.

WINTERSTEIN et TRIER font dériver également les alcaloïdes des *matières protéïques* ; celles-ci donneraient comme premiers produits de désagrégation des *diamines* qui par cyclisation de leur chaîne engendreraient les composés *pyrroliques*.

La présence dans les feuilles de Belladone de *diamines* pouvant donner naissance à des dérivés *pyrroliques*, à côté de la *N-méthylpyrroline* et de la *N-méthylpyrrolidine*, constitue un argument à l'appui de cette manière de voir.

Nous nous bornons ici à exposer ce que nous avons trouvé, nous gardant bien de vouloir justifier une hypothèse plutôt que l'autre. En multipliant les expériences on arrivera à restreindre peu à peu le champ des hypothèses possibles et on se rapprochera progressivement de la connaissance de la vérité. En apportant quelques faits nous avons voulu simplement contribuer pour une part à cette étude plus générale.

Vu bon à imprimer :

Le Président de Thèse,
Em. PERROT.

Vu :

Le Doyen,
H. GAUTIER.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
P. APPELL.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

	Pages.
Sur l'origine et le rôle des alcaloïdes dans les plantes	1

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I. — Sur l'existence d'alcaloïdes volatils dans les feuilles de Belladone	9
CHAPITRE II. — Traitement des feuilles de Belladone pour extraire et séparer les alcaloïdes fixes et vola- tils.	13
I. — Traitement des liqueurs étherées	14
II. — Traitement des liqueurs aqueuses	22
CHAPITRE III. — Séparation de l'ammoniaque et des amines. Caractérisation de l'ammoniaque en présence des amines.	26
I. — Méthodes suivies pour la séparation de- l'ammoniaque et des amines	26
II. — Caractérisation de l'ammoniaque en pré- sence des amines	28

DEUXIÈME PARTIE

Influence des alcaloïdes volatils sur le titrage pharmacodyna- mique de la Belladone et de ses préparations.	33
I. — Influence de l'ammoniaque.	37
II. — Influence des bases volatiles.	39
III. — Influence de la pyridine.	44

CONCLUSIONS

Imprimerie J. Lechevrel, Mayenne
